Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Paris.
12e Série, 1976, Tome *17*, pp. 361-374.

LES PROBLÈMES POSÉS PAR L'EXISTENCE D'ACIDES RIBONUCLÉIQUES DANS LES COMPARTIMENTS LYSOSOMAUX VÉGÉTAUX

Par B. MARIN

Laboratoire de Physiologie végétale,
Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé, B.P. 20, Abidjan, Côte-d'Ivoire.

RÉSUMÉ

Les résultats récents obtenus à partir de la fraction lysosomale du latex d'*Hevea brasiliensis* sont exposés dans ce travail et font apparaître la production d'acides ribonucléiques au niveau d'une organelle à vocation hydrolytique dans la fonction cellulaire. Ces résultats sont discutés dans le cadre des hypothèses contradictoires qui entourent la genèse de l'appareil lysosomal, sa structure et sa fonction.

SUMMARY

Some problems about the occurrence of ribonucleic acids in the plant lysosomal compartment.

Recent results obtained about lysosomal compartment from *Hevea brasiliensis* latex which are described in this paper indicate the occurrence of ribonucleic acids in an organelle which have an hydrolytic vocation in cell function. These results are discussed in relation with the most debated hypothesis about genesis of the lysosomal apparatus : structure and function.

17 FEV. 1978
O. R. S. T. O. M.
Collection de Référence
n° 9036 B.B.V.

INTRODUCTION

La cellule se révèle une structure complexe. Ce n'est pas un simple sac contenant différentes structures autonomes. Il existe des interrelations entre ces différents organites. L'essentiel de l'information est contenu au niveau du noyau mais chaque organite en possède un fragment lui permettant de moduler sa fonction. Ainsi, de l'ADN et de l'ARN ont été trouvés dans les chloroplastes et les mitochondries végétales (J. T. O. KIRK, 1966; R. M. SMILLIE et N. S. SCOTT, 1969; F. VEDEL et F. QUETIER, 1974). Leur rôle commence à être bien défini. Plus récemment, on a démontré que des structures monomembranaires, telles que les glyoxysomes (B. P. GERHARDT et H. BEEVERS, 1969; TE MAY CHING, 1970; G. D. CLARKE-WALKER, 1972), voire même les lysosomes *sensu largo* (P. MATILE et A. WIEMKEM, 1967; P. MATILE, 1968; D. PITT et M. GALPIN, 1973) contenaient de telles macromolécules. Lorsque l'on connaît le contenu et l'efficacité de l'arsenal enzymatique présent dans les lysosomes, il devient assez paradoxal de trouver à la fois le substrat, l'ARN, et une voire plusieurs activités enzymatiques propres à l'hydrolyser. Nous pouvons alors nous interroger sur la présence d'ARN dans un tel compartiment cellulaire.

Que ce soit pour P. MATILE et ses collaborateurs ou pour l'équipe de D. PITT, le matériel végétal utilisé est fort complexe : il s'agit, d'une part, de tissus racinaires de plantules de *Zea mays* L.; d'autre part, de tissus caulinaires de jeunes pousses de *Solanum tuberosum* L. Le type de fractionnement employé rend difficile l'isolement de fractions très purifiées, et donc *a fortiori* de fractions lysosomales pures. Or, le latex d' *Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth), qui correspond au cytoplasme d'un syncytium laticifère, a un cytoplasme appauvri en organites cellulaires, c'est un matériel de choix pour isoler des quantités considérables de structures équivalentes à des lysosomes (les lutoïdes) dans un état extrêmement pur (S. PUJARNISCLE, 1968). Nous avons donc essayé de savoir dans quelle mesure il était possible de trouver de l'ARN dans ce compartiment cellulaire.

*PRÉSENCE D'ARN DANS LES LUTOÏDES DU LATEX D'*HEVEA BRASILIENSIS

Les lutoïdes sont des organites monomembranaires qu'il est facile de séparer du reste du latex par une centrifugation différentielle de 10-15 mn à 39 000 g à 4 °C. Le sédiment lutoïdique obtenu est hétérogène. En effet, il contient une activité phosphatase acide caractéristique des lysosomes mais aussi une activité polyphénol-oxydase typique des particules de Frey-

Wyssling, qui correspondent à des chloroplastes dégénérés (P. B. DICKENSON, 1965).

Toutefois, un certain nombre d'expériences faites sur ce sédiment lutoïdique nous permettent de conclure à l'existence d'ARN dans le compar-

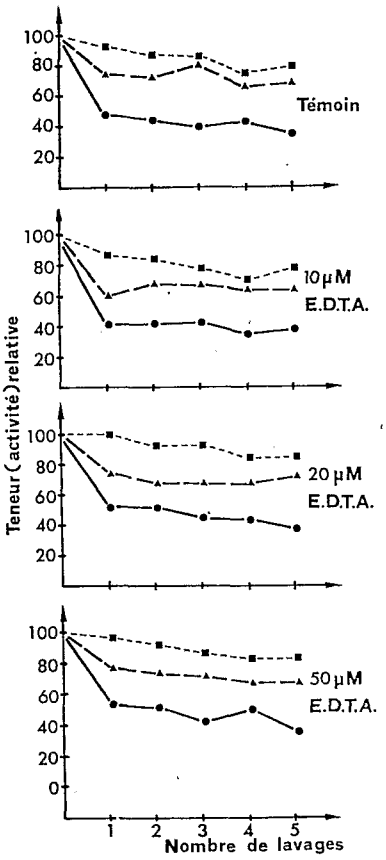


FIG. 1.

Effets des lavages répétés de la fraction lysosomale (= lutoïdique) d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth) sur sa teneur en ARN et sur son activité phosphatase acide.

Le latex d'*Hevea brasiliensis* provient de la saignée d'arbres issus du clône TJ_1 selon une méthode déjà décrite (B. MARIN, 1974), qui évite une contamination bactérienne importante. La même quantité de latex est déposée dans 8 tubes de centrifugeuse. Elle est centrifugée pendant 10 mn à 3 900 g à 4 °C. Les culots correspondant aux deux premiers tubes sont repris séparément sur 40 ml de tampon Tris-mannitol. La suspension finale obtenue correspond au sédiment lutoïdique brut. Les autres culots sont repris également par ce tampon mais ce dernier contient en plus respectivement 10, 20 et 50 mM d'EDTA. Une partie aliquote de 5 ml est prélevée de chaque tube : 4 ml sont destinés au dosage de l'ARN (—●) selon la méthode de J. TUPY (1969), le reste pour les protéines (- - ▲ - -) et l'activité phosphatase acide (- - - ■ - - -) estimée comme le suggère S. PUJARNISCLE (1968). Les 35 ml restants sont centrifugés pendant 10 mn à 34 800 g et les culots obtenus sont remis en suspension dans les mêmes conditions, mais cette fois avec 35 ml de tampon. On prélève une fraction aliquote identique, les mêmes dosages sont effectués et ils correspondent au premier lavage du sédiment lutoïdique. Trois autres lavages seront effectués ainsi. Leur teneur (ou leur activité) est exprimée en pour-cent de la teneur (ou l'activité) trouvée dans le sédiment lutoïdique brut.

timent lysosomal du latex d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth) (B. MARIN, P. TROUSLOT et S. PUJARNISCLE, 1974; B. MARIN et P. TROUSLOT, 1975) :

— *Il ne suffit pas de laver intensément le sédiment lutoïdique pour en éliminer l'ARN, même en présence d'EDTA.*

L'EDTA est un agent connu pour solubiliser l'ARN adsorbé sur les structures membranaires (D. D. SABATINI *et al.*, 1966) susceptibles d'être présentes dans ce sédiment lutoïdique (fig. 1).

— *Que le sédiment lutoïdique soit traité ou non par un agent déstabilisant donné (traitement mécanique ou chimique), connu pour labiliser les organites qu'il contient, l'ARN n'est libéré que dans la mesure où l'activité phosphatase acide est solubilisée.*

Il existe une relation linéaire entre la teneur en ARN du sédiment lutoïdique et le contenu en phosphatase acide de ce sédiment (fig. 2).

— *On observe une relation étroite entre l'ARN du sédiment lutoïdique*

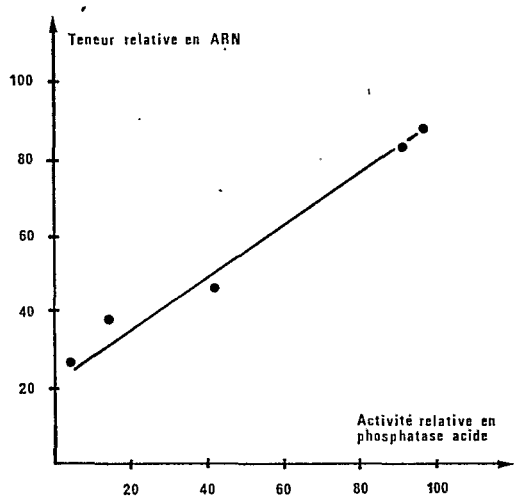


FIG. 2. — Effet des différents traitements déstabilisants sur le contenu en ARN de la fraction lysosomale (= lutoïdique) d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth) : relation entre la teneur en ARN de la fraction lutoïdique et l'activité phosphatase acide présente dans le compartiment lutoïdique.

La fraction lysosomale lavée deux fois par du tampon Tris-mannitol (300 mM mannitol, 10 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, 100 mM Tris-HCl, pH 7,5) et ayant subi l'un de ces quatre traitements déstabilisants (choc mécanique par dispersion à l'homogénéiseur à lames Waring-Blendor, choc osmotique par reprise dans un tampon dépourvu de mannitol, rupture des organites par du Triton X-100 à la concentration finale de 0,1 % [p./v.], rupture des organites par la digitonine à la concentration finale de 0,5 % [p./v.]), est centrifugée pendant 15 mn à 39 000 g à 4 °C. Les différents dosages sont effectués sur le culot obtenu. La teneur (ou l'activité) alors estimée est exprimée en pour-cent de la teneur (ou l'activité) initialement présente dans le sédiment non traité.

et l'activité phosphatase acide, quelle que soit la densité des lutoïdes analysés par gradient de concentration en saccharose.

8 ml d'une suspension lutoïdique provenant d'un sédiment brut lavé deux fois par du tampon Tris-mannitol sont déposés sur un gradient de concentration allant de 0 à 50 %.

Après une centrifugation d'une heure à 90 000 g, nous obtenons les résultats présentés dans la figure 3 *a*.

La teneur en ARN et les activités phosphatase acide et polyphénol-

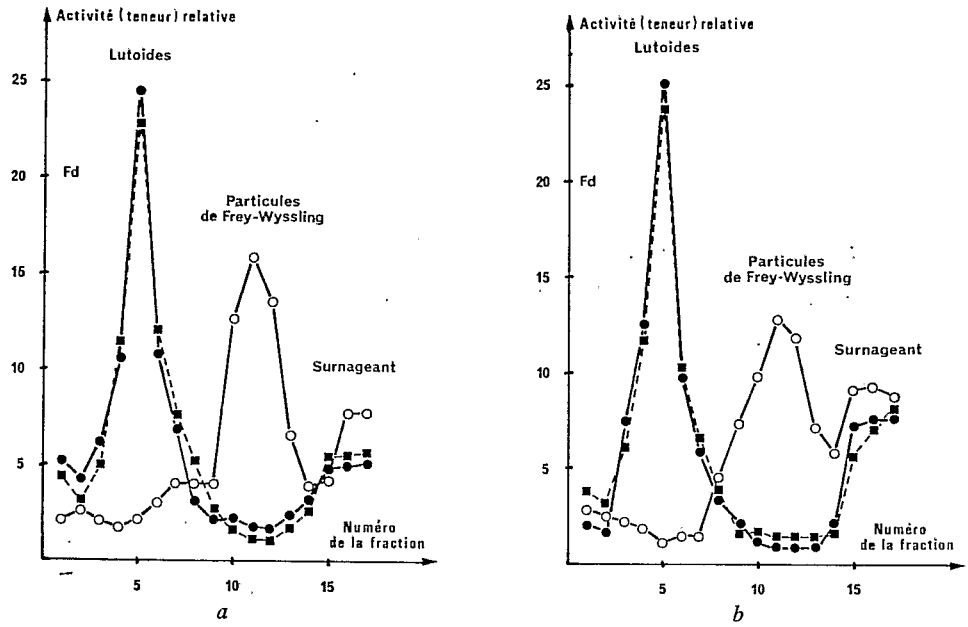


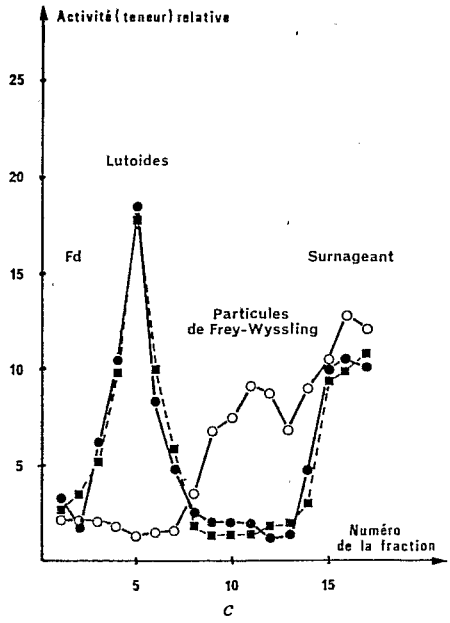
FIG. 3.

Profil de sédimentation d'une fraction lysosomale (= lutoïdique) d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth) dans un gradient de concentration en saccharose.

8 ml de la fraction à analyser, diluée dans du tampon Tris-mannitol, sont étalés sur un gradient linéaire de saccharose tamponné allant de 50 à 0 % placé sur un coussin de 3 à 4 ml de saccharose à 75 %. On centrifuge le tout dans un rotor Spinco SW 25.1 pendant 1 heure à 24 000 trs/min à 4 °C. Des fractions de 2 ml sont alors recueillies et dosées. Chaque fraction récoltée est analysée quant à son contenu en ARN (—●—), en protéines (---▲---) et en activités phosphatase acide (---■---) et polyphénol-oxydase (—○—) (B. MARIN, 1974). Leur teneur (ou activité) est exprimée en pour-cent de la teneur (ou activité) totale récupérée. *Fd*, fond du tube; *Dt*, début du gradient.

Les analyses portent d'abord sur la fraction lutoïdique brute, puis sur les fractions 4, 5 et 6 reprises et mises sur un nouveau gradient de densité pour être purifiées. Les mêmes fractions seront récoltées et rassemblées pour être à nouveau purifiées par centrifugation en gradient de densité.

a) fraction lutoïdique brute; *b)* fraction lutoïdique purifiée; *c)* fraction lutoïdique repurifiée.



oxydase sont exprimées en pourcentage des teneurs et des activités totales récupérées.

La phosphatase acide est une activité spécifique des lutoïdes alors que la polyphénol-oxydase est caractéristique des particules de Frey-Wyssling.

Nous remarquons donc, en suivant les distributions de ces activités, que les lutoïdes se trouvent relativement bien séparées des particules de Frey-Wissling.

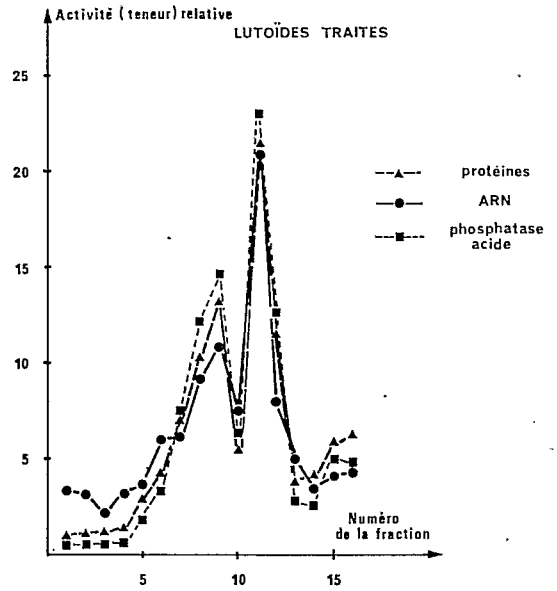


Fig. 4. — Influence d'un colorant vital, le rouge neutre, sur la sédimentation des lutoïdes dans un gradient de concentration en saccharose.

Sur le terrain on ajoute à la récolte de 100 ml de latex, 4 ml d'une solution aqueuse de rouge neutre à 0,5 % (p./v.). Le sédiment lutoïdique, lavé deux fois dans du tampon Tris-mannitol, est finalement repris dans 8 ml de ce tampon. Il est fractionné par sédimentation dans un gradient linéaire de concentration en saccharose allant de 70 à 40 % centrifugé dans un rotor Spinco SW 25.1 pendant 15 mn à 22 000 trs/mn à 4 °C. Les fractions sont recueillies et analysées selon le protocole expérimental décrit précédemment (B. Marin, 1974).

Nous pouvons noter aussi que la distribution de l'ARN dans ce gradient suit remarquablement bien celle de la phosphatase acide.

Si nous reprenons cette fraction lutoïdique et que nous l'étalons sur un nouveau gradient de concentration, nous observons le même résultat : la distribution de l'ARN suit strictement celle de la phosphatase acide (fig. 3 *b*).

Une nouvelle purification par centrifugation en gradient de densité confirme ce résultat (fig. 3 *c*).

D'autre part, si nous modifions la densité des lutoïdes en leur faisant

absorber du rouge neutre, nous observons toujours ce parallélisme entre la distribution de l'ARN et celle de la phosphatase acide (fig. 4).

Ainsi, l'ARN présent dans la fraction lutoïdique serait contenu dans les lutoïdes de ce sédiment.

— *On peut ajouter encore que l'ARN de la fraction lutoïdique ne peut être hydrolysé par la ribonucléase pancréatique que dans la mesure où les lutoïdes de ce sédiment ont été déstabilisés, l'ARN se trouvant alors accessible à la ribonucléase pancréatique.*

Tous ces résultats nous permettent d'affirmer sans ambiguïté qu'il existe de l'ARN dans le compartiment lysosomal du latex d'*Hevea brasiliensis*.

Les quantités d'ARN trouvées sont infiniment moins élevées que celles citées dans la littérature : soit par Ph. MATILE, 108 µg à 283 µg d'ARN par mg de protéines pour des vacuoles de plantes supérieures; soit par A. WIEMKEM, 250 µg d'ARN par mg de protéines pour des vacuoles provenant de protoplastes lysés de *Saccharomyces cerevisiae*. Elles se raprocheraient de celles obtenues par D. PITT et M. GALPIN pour des lysosomes vrais isolés de jeunes pousses de *Solanum tuberosum* : ils trouvent de 0,3 à 3 µg alors que nous avons 3,4 µg à 6,8 µg d'ARN par mg de protéines.

Une telle différence s'explique par le fait que leurs fractions cellulaires sont enrichies en vacuoles mais elles contiennent encore des fragments de réticulum endoplasmique. Ces fragments peuvent s'avérer très riches en ribosomes et, par suite, en ARN ribosomal.

NATURE DE CET ARN LYSOSOMAL

Les conditions expérimentales sont particulièrement favorables pour isoler l'ARN de ce compartiment cellulaire, donc en analyser sa nature, ce qui jusqu'à présent n'avait jamais été fait.

Seules, des considérations morphologiques faites en microscopie électronique avaient amené différents auteurs à conclure que l'ARN suggéré être dans les lysosomes était ribosomal (Ph. MATILE et A. WIEMKEM, 1967; Ph. MATILE, 1968; D. PITT et M. GALPIN, 1973).

L'ARN a donc été extrait de ce compartiment cellulaire, en utilisant des méthodes d'isolement jugées satisfaisantes pour le préparer sous sa forme native (B. MARIN, 1969; B. MARIN, 1974). Du SDS a été employé à une concentration suffisamment élevée, de 1 à 2 %, pour inhiber toute activité ribonucléasique lysosomale. L'ARN obtenu a été analysé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 2,4 % selon la méthode de U. E. LOENING (U. E. LOENING, 1967, 1968; B. MARIN, 1974). Elle se fait en milieu Tris-acétate, en présence d'EDTA 1 mM et de SDS à une concentration finale de 0,1 %. L'électrophorèse finie, les gels sont lus à 260 nm.

Les résultats obtenus sont extrêmement variables. Ainsi, sur la figure 5, nous notons qu'au bout de 100 mn, cet ARN migre en trois bandes nettement individualisées :

— Une bande I, correspondant à un ARN de bas poids moléculaire, un ARN soluble peut-être, voire un ARN en cours de dégradation.

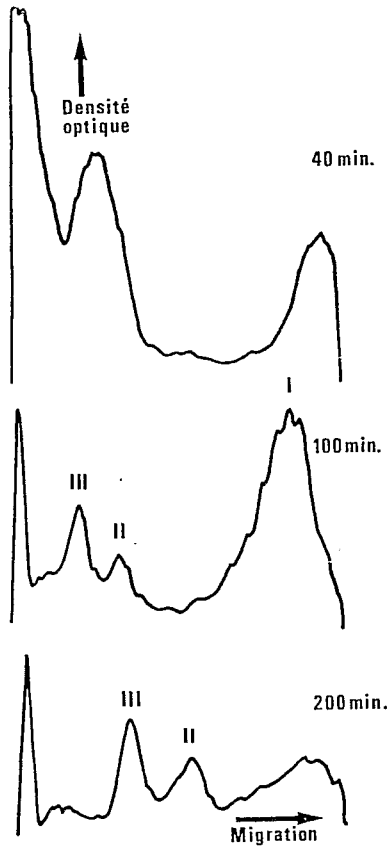


FIG. 5.

Séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide de l'ARN contenu dans la fraction lutoïdique du latex d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. Kunth).

L'ARN de la fraction lutoïdique est extrait selon une méthode décrite précédemment, la méthode au phénol utilisant du sodium-dodécyl-sulfate (SDC) et du macaloïd pour inhiber les importantes activités nucléases présentes (B. MARIN, 1974). L'électrophorèse de l'ARN est réalisée sur un gel de polyacrylamide préparé à 2,4 % (V. E. LOENING, 1967, 1968). La quantité d'ARN déposée à la surface du gel est de l'ordre de 20 µg, contenue dans 20 µl de tampon d'électrophorèse à 20 % en saccharose. Une fois l'électrophorèse effectuée à la température ambiante et en présence de SDS, on fait la lecture de ce gel en ultraviolet au bout d'un temps de migration de 40 mn *(a)*, de 100 mn *(b)* et de 200 mn *(c)*.

— Les bandes II et III, correspondant à des ARN de haut poids moléculaire, voire des ARN ribosomaux.

Nous avons cherché à les caractériser en les comparant à un ARN bien connu, l'ARN de *Raphanus sativus*, plus particulièrement l'ARN extrait d'une fraction enrichie en chloroplastes. La cinétique de migration d'un tel marqueur nous indique effectivement que la composante I est comparable à de l'ARN soluble, voire à un ARN en cours de dégradation, alors que les composantes II et III sont le fait d'ARN ribosomaux.

Souvent, nous n'obtenons que la composante I qui représente un ARN

de faible poids moléculaire. Elle peut représenter de 60 à 70 % de l'ARN total. Ce qui peut surprendre *a priori*, c'est le caractère relativement dégradé de l'ARN lutoïdique.

Nous avons cherché quelle pouvait être la nature de cette variabilité, quelle pouvait être l'origine de cette dégradation:

— Dans un premier temps, nous avons pensé à notre protocole expérimental.

En effet, souvent, la préparation d'une fraction cellulaire entraîne une dégradation assez élevée de l'ARN qu'elle contient. U. E. LOENING l'a remarquée lorsqu'il extrait de l'ARN ribosomal des fractions enrichies en chloroplastes. Et cela serait d'autant plus sensible que le compartiment lysosomal contient une activité ribonucléase non négligeable (S. PUJARNISCLE, 1968; B. MARIN, 1975). Toutefois, même si cette activité est inhibée tout au long du processus d'isolement des lutoïdes par de l'EDTA, cet ARN s'avère tout aussi dégradé. L'extraction de l'ARN lysosomal en tampon Glycine-NaOH donne des résultats comparables.

La dégradation de l'ARN ne semble pas liée au protocole expérimental utilisé. L'origine de cette dégradation serait inhérente au matériel même. L'ARN serait déjà dégradé *in vivo*.

Il ne faut pas oublier que les lutoïdes contiennent tout un ensemble d'enzymes propres à dégrader toutes les molécules essentielles à la vie de la cellule. Ils contiennent notamment une ribonucléase et une phosphodiestérase acides qui ne demandent qu'à être activées pour fonctionner. Ces deux enzymes pourraient expliquer en partie les résultats obtenus, d'autant que la composition en bases de cet ARN se rapprocherait de celle d'un ARN ribosomal, voire d'une population d'acides nucléiques riches en ARN ribosomal. Le contenu en G + C est de 60,1 %.

L'ARN lutoïdique semble donc être représenté par une population de molécules de bas poids moléculaire, qui pourrait être le reflet de la fonction même de ces lutoïdes.

D'autre part, le fractionnement de l'ARN lutoïdique met en relief l'existence de deux composantes de haut poids moléculaire, les composantes II et III, dont le niveau de dégradation peut être très important, et ce d'autant plus si nous isolons cet ARN des ribosomes préparés de ces fractions. L'influence de la ribonucléase lutoïdique doit être, là encore, très importante.

Nous avons comparé ces ARN de haut poids moléculaire à des marqueurs bien connus, à savoir les ARN ribosomaux de *Raphanus sativus* (fig. 6).

Le profil électrophorétique b (fig. 5) représente un ARN ribosomal extrait d'une fraction enrichie en chloroplastes. Nous y notons les composantes 1,1 M et 0,56 M typiques des ARN chloroplastiques et les composantes 1,3 M et 0,7 M spécifiques des ARN cytoplasmiques. L'ARN ribosomal lutoïdique s'identifie à l'ARN ribosomal cytoplasmique de ce marqueur.

Un tel résultat nous amène à chercher quel peut être son origine. Trois hypothèses sont possibles :

— soit ce serait le résultat de l'adsorption de ribosomes sériques sur la membrane lutoïdique.

Nous devrions alors considérer que lors de nos lavages l'EDTA est inefficace pour solubiliser ces ribosomes liés à la membrane lutoïdique, ce qui serait en contradiction avec les résultats de D. D. SABATINI *et al.* (1966).

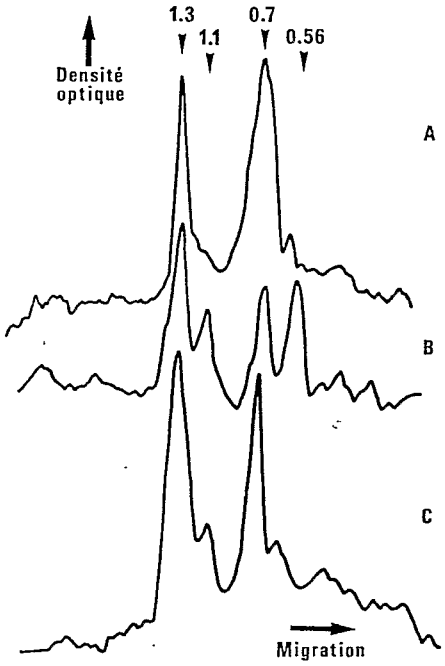


FIG. 6.

Séparation électrophorétique sur gel de polyacrylamide des ARN ribosomiques de fraction lutoïdique d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. (Kunth) et de fraction enrichie en chloroplastes de radis *(Raphanus sativus)*.

a, ARN ribosomique de fraction lutoïdique; *b*, ARN ribosomiques extraits de fractions enrichies en chloroplastes isolées de plantules de radis; *c*, mélange d'ARN lutoïdique et d'ARN chloroplastique.

20 à 40 µg d'ARN sont déposés sur chaque gel. L'électrophorèse se déroule pendant 120 mn à la température ambiante et en présence de SDS. La densité optique des gels est mesurée en ultra-violet. Le poids moléculaire des molécules séparées est estimé selon la méthode décrite par E. U. LOENING (1969), utilisant les composantes ribosomales 23 S et 16 S isolées d'une souche MRE 600 d'*Escherichia coli*.

Leur résistance à une forte concentration en ribonucléase pancréatique mériterait aussi une explication (B. MARIN et P. TROUSLOT, 1975).

— Soit cet ARN ribosomal serait une molécule constitutive de la structure lutoïdique.

— Soit la présence d'ARN ribosomal dans la fraction lutoïdique découlerait de l'activité même des lutoïdes.

Il est difficile, dans l'état actuel de nos connaissances, d'affirmer ou d'infirmer la véracité de telle ou telle hypothèse. Car finalement, toute réflexion faite, chacune peut représenter une étape dans le processus de digestion des acides ribonucléiques, chacune peut expliquer la synthèse de certaines protéines lysosomales.

FONCTION DE CET ARN LYSOSOMAL

Si les travaux effectués sur le compartiment lysosomal du latex d'*Hevea brasiliensis* permettent d'affirmer la présence d'ARN dans ce dernier, la signification de cette présence nous échappe.

Certes, bon nombre d'auteurs pensent qu'il existe une certaine autonomie pour le compartiment lysosomal, quant à la synthèse d'un certain nombre de protéines lysosomales spécifiques. C'est une hypothèse que Ph. MATILE a essayé mainte fois de vérifier.

Mais, pour notre part, nous n'avons jamais pu la caractériser de façon non équivoque avec notre matériel végétal. Car il nous est difficile de la séparer d'une synthèse protéique bactérienne toujours présente. Elle est beaucoup trop faible.

Le problème de la synthèse des enzymes lysosomales reste entier. Certes, l'exaltation des activités hydrolytiques, comme la RNAse pour la corolle d'*Ipomaea purpurea* en voie de sénescence (P. MATILE et F. WINKENBACH, 1971) nécessiterait une synthèse protéique préalable susceptible d'être inhibée par la cyclo-heximide et l'actinomycine D. Cette synthèse serait lysosomale mais, récemment, D. PITT (1975), pour un matériel tout à fait différents des jeunes pousses de *Solanum tuberosum*, indique qu'elle serait cytoplasmique.

Dans l'état actuel de nos connaissances, suite aux derniers résultats de D. PITT (1975), il semblerait que dans des zones restreintes du réticulum endoplasmique, avant l'invagination de la membrane réticulaire et la formation des lysosomes, il y ait une synthèse de monomères enzymatiques lysosomaux non actifs. Cette synthèse serait cytoplasmique et donc extralysosomale. Ce n'est qu'ensuite, la maturation des lysosomes étant faite, par un processus restant à définir, qu'il y aurait une révélation des activités enzymatiques lysosomales par une polymérisation des monomères préexistants, ce qui entraînerait une exaltation de ces activités enzymatiques et la digestion des substrats susceptibles d'être présents alors dans ce compartiment cellulaire, par pinocytose peut-être. Les ribosomes liés à la membrane lysosomale pourraient intervenir dans ce processus d'activation, ce qui reste à démontrer.

Toutefois, il ne faut pas s'astreindre à penser que tout l'ARN présent dans ce compartiment cellulaire a une fonction dans une quelconque synthèse protéique. La nature même de l'ARN préparé à partir des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* laisse supposer un processus de dégradation intense au sein du compartiment lysosomal.

Tout comme T. A. DYER et P. I. PAYNE (1974), nous pensons que les lysosomes constituent un lien de dégradation des ARN cellulaires. Un tel processus suppose l'existence d'une pinocytose. Chez le latex, elle n'a

jamais été observée. Toutefois, chez d'autres végétaux, elle a été notée plusieurs fois. Citons les travaux de Ph. MATILE et H. MOOR (1968), ceux de T. A. VILLIERS (1971) et ceux de P. COULOMB et coll. Ainsi, par exemple, T. A. VILLIERS (1971) note une invagination de la membrane lysosomale tendant à pinocyter une fraction cytoplasmique. Ph. MATILE et H. MOOR (1968) ont même reconstitué morphologiquement le processus selon lequel du matériel cytoplasmique serait incorporé dans des vacuoles végétales.

CONCLUSION

Si la présence d'ARN dans un compartiment lysosomal est certaine à la suite de notre travail sur les lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis*, la signification de sa présence nous échappe encore et demeure obscure.

Il est difficile de faire la part des choses. Nous sommes encore dans le domaine des hypothèses. Ce qui est certain, c'est que nous disposons d'un matériel nous permettant d'isoler un ARN lysosomal. Nous en connaissons maintenant sa nature. Elle nous laisse perplexe.

Le fractionnement de cet ARN par électrophorèse sur gel de polyacrylamide est hétérogène : c'est essentiellement une population de molécules de bas poids moléculaire, dont le contenu en G + C est caractéristique d'ARN ribosomaux, ce qui évoque un processus de dégradation.

Le peu d'ARN ribosomal retrouvé a les caractéristiques d'un ARN cytoplasmique. Est-ce là le reflet d'une activité anabolique ou catabolique ? Nous ne sommes pas en mesure de répondre encore à cette question.

Jusqu'à présent, un problème de matériel se posait. Il n'était pas possible d'obtenir des préparations d'ARN lysosomal. Maintenant nous disposons, avec le latex d'*Hevea brasiliensis*, d'un matériel permettant d'isoler cet ARN. Tout alors devient possible. Beaucoup de travail reste encore à faire pour en connaître son métabolisme.

REMERCIEMENTS. — Qu'il nous soit permis d'exprimer toute notre profonde gratitude à M. le Pr Georges CAMUS, Directeur général de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer, sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour, en lui permettant sa réalisation par les facilités qu'il nous a accordées et par les conseils et les encouragements qu'il a su nous prodiguer.

Tous nos remerciements vont à Pierre TROUSLOT, du Laboratoire de Physiologie végétale (Centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé, Abidjan, Côte d'Ivoire) qui, par son aide technique remarquable et dévouée, nous a permis de progresser rapidement et à M. MARIN-LANZA pour sa collaboration de tous les instants.

Nous témoignons également notre gratitude au Pr Serge PUJARNISCLE, qui a su nous donner des conseils judicieux et éclairés tout au long du travail. Nous exprimons toute notre reconnaissance au Pr Yves GUITTON et au Pr Jean D'HAUZAC pour leurs suggestions et leurs critiques concernant cette recherche.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ching (Te-May), 1970. — Glyoxysomes in mega-gametophyte of germination Ponderosa. *Plant Physiol., 46,* 475-482.
2. Clarke-Walker (G. D.), 1972. — Isolation of circular DNA from a mitochondrial fraction from yeast. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 69,* 388-392.
3. Dickenson (P. B.), 1965. — The ultrastructure of the latex vessels of *Hevea brasiliensis. Proc. Nat. Rubb. Prod. Res. Ass.,* Jubilee Conf., Cambridge, 1964, pp. 52-66. *McLaren and Sons Ltd.,* London.
4. Dyer (T. A.) et Payne (P. I.), 1974. — Katabolism of plant cytoplasmic : a study of the interaction between ribosomes and ribonuclease. *Planta, 117,* 259-268.
5. Gerhardt (B. P.) et Beevers (M.), 1969. — Occurrence of RNA in glyoxysomes from castor bean endosperm. *Plant Physiol., 44,* 1475-1477.
6. Kirk (J. T. O.), 1966. — In : Biochemistry of Chloroplasts. (T. W. Goodwin, ed.), *1,* pp. 319-352. *Academic Press,* édit., London.
7. Loening (U. E.), 1967. — The fractionation of high-molecular acid by polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochem. J., 102,* 251-257. — 1968. The fractionation o figh molecular weight RNA in chromatographic and electrophoretic techniques. In : Chromatographic and electrophoretic techniques (Smith, ed.), 2, 437-443. *W. Heinemann (Med. Books) Ltd.,* édit., London. — 1969. The determination of the molecular weight of ribonucleic acid by polyacrylamide gel electrophoresis : the effects of changes in conformation. *Biochem. J., 113,* 131-138.
8. Marin (B.), 1969. — Etude de l'altération de la composition en différents acides ribonucléiques foliaires chez certaines espèces de *Gossypium* soumises à une carence hydrique. I : Mise au point technique des méthodes d'extraction et de fractionnement des acides ribonucléiques foliaires. *Mémoire O.R.S.T.O.M.,* 65 p. — 1974. La mise en évidence d'acides ribonucléiques dans les lutoïdes (= compartiment lysosomal) du latex d'*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. *Thèse de Spécialité.* Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 113 p. — 1975. Quelques études préliminaires sur les activités ribonucléiques présentes dans le compartiment lutoïdique du latex d'*Hevea brasiliensis. Mémoire O.R.S.T.O.M.,* 37 p.
9. Marin (B.) and Trouslot (P.), 1975. — The occurrence of ribonucleic acid in the lutoid fraction (lysosomal compartment) from *Hevea brasiliensis* Künth. (Müll-Arg.) latex. *Planta, 124,* 31-41.
10. Marin (B.), Trouslot (P.) and Pujarniscle (S.), 1974. — Some evidence for the occurrence of ribonucleic acid in the lutoid fraction (lysosomal compartment) from *Hevea brasiliensis* latex. *Biochem. J., 143,* 479-481.
11. Matile (Ph.), 1968. — Lysosomes in root tip cells in corn seedlings. *Planta, 79,* 181-196.
12. Matile (Ph.) and Moor (H.). — Vacuolation : origin and development of the lysosomal apparatus in root-tip cells. *Planta, 80,* 159-175.
13. Matile (Ph.) and Wiemkem (A.). 1967. — The vacuole as the lysosome of the yeast cell. *Arch. Mikrobiol., 56,* 148-155.
14. Matile (Ph.) and Winkenbach (F.), 1971. — Function of lysosomes and lysosomal enzymes in the senescing corolla of the morning glory *Ipomaea purpurea. J. Exptl. Bot., 22,* 759-771.
15. Pitt (D.), 1975. — Changes in activity of lysosomal ribonuclease following mechanical damage to leaves of *Solanum tuberosum* L. *Planta, 123,* 125-136.
16. Pitt (D.) and Galpin (M.), 1973. — Isolation and properties of lysosomes from dark-grown patato shoots. *Planta, 109,* 233-258.
17. Pujarniscle (S.), 1968. — Caractère lysosomal des lutoïdes du latex d'*Hevea brasiliensis* Müll.-Arg. *Physiol. Veg., 6,* 27-46.

18. SABATINI (D. D.), TASHIRO (Y.) and PALADE (G. E.), 1966. — On the attachment of ribosomes to microsomal membranes. *J. Mol. Biol.*, *19*, 503-524.
19. SMILLIE (R. M.) and SCOTT (N. S.), 1969. — In : Progress in molecular and subcellular biology (F. E. HANN ed.), *1*, pp. 136-202. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg and New-York.
20. TUPY (J.), 1969. — Nucleic acids in latex and the production of rubber in *Hevea brasiliensis*. *J. Rubb. Res. Inst., Malaya*, *21*, 468-475.
21. VEDEL (F.) and QUETIER (F.), 1974. — Identification of mitochondrial RNA from plant cells. *FEBS Lett.*, *42*, 305-308.
22. VILLIERS (T. A.), 1971. — Lysosomal activities of the vacuoles in damaged and recovering plant cells. *Nature New Biol.*, *233*, 57-58.